

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 39/21, 39/245, 39/12, 39/00,</b> <b>39/118, 39/02 // C07K 14/16</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale: WO 00/00217</b> <b>(43) Date de publication internationale: 6 janvier 2000 (06.01.00)</b>
<p><b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR99/01539</p> <p><b>(22) Date de dépôt international:</b> 25 juin 1999 (25.06.99)</p> <p><b>(30) Données relatives à la priorité:</b>  98/08353 26 juin 1998 (26.06.98) FR</p> <p><b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> PASTEUR MERIEUX SERUMS &amp; VACCINS [FR/FR]; 58, avenue Leclerc, F-69007 Lyon (FR).</p> <p><b>(72) Inventeurs; et</b>  <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> JOURDIER, Thérèse [FR/FR]; Le Grillon, Bâtiment B, Chemin de Chantegrillet, F-69340 Francheville (FR). MOSTE, Catherine [FR/FR]; 7, avenue Louis Momet, F-69260 Charbonnières les Bains (FR). MEIGNIER, Bernard [FR/FR]; 26, rue du 8 Mai 1945, F-69510 Thurins (FR).</p> <p><b>(74) Mandataire:</b> KERNEIS, Danièle; Pasteur Merieux Connaught, Direction de la Propriété Industrielle, 58, avenue Leclerc, F-69007 Lyon (FR).</p>		<p><b>(81) Etats désignés:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Publiée</b>  <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>  <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i></p>
<p><b>(54) Title: MUCOSAL TARGETING IMMUNISATION</b></p> <p><b>(54) Titre: IMMUNISATION A CIBLAGE MUCOSAL</b></p> <p><b>(57) Abstract</b></p> <p>The invention concerns the use of an immunogen specific of a pathogenic agent having a gateway in a mucous membrane for producing an immunogenic composition to be administered to a human by parenteral route at the surface of part of the body distinct from the mucous membrane so as to directly develop a local response in IgA, IgG and/or IgM antibody in said mucous membrane.</p> <p><b>(57) Abrégé</b></p> <p>Utilisation d'immunogène spécifique d'un agent pathogène ayant une porte d'entrée au niveau d'une muqueuse pour la production d'une composition immunogène destinée à être administrée chez l'homme par voie parentérale à la surface d'une partie du corps distincte de ladite muqueuse, de manière à directement développer une réponse locale en anticorps IgA, IgG et/ou IgM au niveau de ladite muqueuse.</p>		

# **ONLY FOR INFORMATION**

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia-Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	Former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece	ML	Mali	TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	MN	Mongolia	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MR	Mauritania	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MX	Mexico	US	United States of America
CA	Canada	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	KE	Kenya	NL	Netherlands	VN	Vietnam
CG	Congo	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand	ZW	Zimbabwe
CI	Ivory Coast	KR	Republic of Korea	PL	Poland		
CM	Cameroon	KZ	Kazakhstan	PT	Portugal		
CN	China	LC	Saint Lucia	RO	Romania		
CU	Cuba	LI	Liechtenstein	RU	Russian Federation		
CZ	Czech Republic	LK	Sri Lanka	SD	Sudan		
DE	Germany	LR	Liberia	SE	Sweden		
DK	Denmark			SG	Singapore		
EE	Estonia						

## Immunisation à ciblage mucosal

La présente invention concerne une méthode d'immunisation permettant d'induire une réponse immunitaire locale, notamment dans la région muqueuse recto-génito-urinaire. Elle a également pour objet l'utilisation d'immunogènes pour la réalisation de compositions vaccinales destinées à être administrées selon ladite méthode.

### Etat de la technique

La voie de transmission principale du virus du SIDA est constituée par les muqueuses, en particulier muqueuses génitale et rectale, voire muqueuse buccale. Depuis ces muqueuses, le virus se dissémine rapidement vers les ganglions drainants, avant de rejoindre le sang périphérique.

Comme dans le cas des autres agents pathogènes (virus, bactérie, etc...) à porte d'entrée mucosale, l'induction d'immunité capable de bloquer le virus à son entrée dans la muqueuse ou dans les premières étapes de sa dissémination dans les ganglions paraît importante.

La plupart des travaux visent généralement à l'obtention d'une immunité systémique qui est détectable par le titre en anticorps sériques, comme décrit par Jian-Ming X. *et al.* (vaccine, 993-1000, 1996), Kim J.J. *et al.* (vaccine, 879-883, 1997), Anderson *et al.* (The Journal of Infectious Diseases, 960-969, 1989), David D. *et al.* (vaccine, 1661-1669, 1997), Raskisov *et al.* (US4368191) et Transgène (FR2751879).

Le ciblage d'une immunité locale du type mucosale peut être démontrée par la présence d'anticorps spécifiques contenus dans les muqueuses ou les sécrétions (Thibodeau L. *et al.*, Aids Research and Human Retrovirus, 1379, 1992 ; Russel M.W. *et al.*, Reviews of infectious diseases, 5440-5446, 1988).

Les travaux de Lehner *et al.*, (Nature Medicine, 767-775, 1996) réalisés chez le macaque rhésus ont montré qu'il est possible d'induire une immunité locale vis-à-vis du virus SIV, en effectuant une injection sous-cutanée extrêmement profonde dans la région pelvienne au voisinage des ganglions iliaques. Cette immunisation se traduit par l'induction d'anticorps de type IgA et IgG dans les fluides rectaux, urinaires

et dans le sérum. Une telle méthode d'immunisation n'est cependant pas applicable à l'homme.

Letchworth G.J. *et al.* (US5462734) enseignent qu'une injection intramusculaire (sans précision du site d'injection) d'une glycoprotéine induit une réponse systémique uniquement, et le rappel effectué au niveau des muqueuses permet l'obtention alors d'une immunité locale mucoale. Il semble donc que l'injection intramusculaire ne permette pas à elle seule le ciblage d'une réponse locale.

Gaffar A. *et al.* (US3931398) enseignent qu'une injection d'un vaccin dans la cavité orale permettrait d'induire une immunité locale. Aucune mesure des anticorps n'est rapporté. Il semble donc que la proximité du site d'injection avec le lieu de ciblage d'une immunité locale soit essentielle, comme rapporté aussi par Letchworth G.J. *et al.* ci-dessus.

Il n'existe donc pas à l'heure actuelle de méthode d'immunisation mucoale ciblant la région recto-génito-urinaire, qui soit réellement efficace et utilisable dans la pratique courante de la médecine humaine ou vétérinaire. Par ailleurs rien ne permet de penser qu'une injection dans des sites éloignés des muqueuses puisse établir une réponse locale ciblée.

### Résumé de l'invention

Afin de pallier les besoins de disposer de solutions techniques pour induire efficacement et facilement une immunité locale, la présente invention vise ainsi l'utilisation d'immunogène spécifique d'un agent pathogène ayant une porte d'entrée au niveau d'une muqueuse pour la production d'une composition immunogène destinée à être administrée chez l'homme par voie parentérale à la surface d'une partie du corps distincte et éloignée de ladite muqueuse, de manière à directement développer une réponse locale en anticorps IgA, IgG et/ou IgM et en cellules B sécrétrices desdits anticorps au niveau de ladite muqueuse et des ganglions qui la draine.

Un objectif particulier de l'invention concerne le ciblage des muqueuses rectales, génitales et/ou urinaires par une administration par voie parentérale dans la cuisse. Face à ce constat, on peut donc maintenant rechercher de multiples sites

d'injections distincts des muqueuses qui permettront directement l'induction d'une réponse locale au niveau de ces muqueuses, notamment en anticorps et en cellules B sécrétrices d'anticorps retrouvées au niveau des muqueuses et des ganglions qui les drainent.

5

Un autre objectif particulier de l'invention est de proposer une telle voie d'immunisation pour développer une immunité locale contre le virus du SIDA (HIV).

10

Un autre objectif de l'invention est d'induire simultanément une immunité systémique, notamment humorale et/ou cellulaire, détectable au niveau du sang périphérique.

#### Détail de l'invention

15

La présente invention a ainsi pour objet le développement d'une réponse locale, notamment au niveau de la muqueuse recto-génito-urinaire et des ganglions qui la drainent par injection parentérale d'une composition immunogène dans une partie du corps distincte de la muqueuse, telle que la cuisse. L'administration parentérale dans la cuisse et dans les régions avoisinantes supérieures, en particulier l'aîne, permet de cibler les ganglions iliaques et inguinaux. On préfère la

20 voie intramusculaire dans l'un ou les deux membres inférieurs, en particulier dans le quadriceps, notamment dans le muscle droit antérieur. Une telle voie d'immunisation s'avère capable d'induire localement au niveau de cette muqueuse d'une part la production d'immunoglobulines dans les sécrétions et, d'autre part

25 régionalement, au niveau des ganglions drainant cette muqueuse, la production de cellules B sécrétrices d'anticorps, tout en induisant une immunité systémique. Cette immunité est susceptible d'induire une protection contre l'entrée et la dissémination du pathogène considéré depuis cette région muqueuse recto-génito-urinaire.

30

L'invention s'applique aussi bien au domaine de la prophylaxie (e.g. vaccins) qu'au domaine de l'immunothérapie active. Le terme composition immunogène recouvre donc les compositions à visée prophylactique, en particulier vaccins, et les compositions à visée curative dans lesquelles l'immunogène est de type antigène.

35

Un premier objet particulier de l'invention est donc l'utilisation d'immunogène spécifique d'un agent pathogène ayant une porte d'entrée au niveau de la région muqueuse recto-génito-urinaire, pour la production d'une composition immunogène

destinée à être administrée à l'homme par voie parentérale dans la cuisse, de préférence par voie intramusculaire, notamment dans le quadriceps, en particulier dans le muscle droit antérieur (l'administration parentérale dans un muscle de la cuisse se fera de préférence dans le muscle de chaque membre inférieur droit et gauche), de manière à développer une réponse locale en anticorps IgA, voire aussi en anticorps IgG et/ou IgM, et en cellules B sécrétrices d'IgG, IgM et/ou IgA au niveau respectivement d'une part des muqueuses recto-génito-urinaires et de leurs sécrétions, et d'autre part des ganglions qui drainent cette muqueuse, en particulier ganglions iliaques externes et internes et ganglions inguinaux. L'injection parentérale et notamment intramusculaire dans la cuisse s'avère en effet permettre le recrutement des cellules B productrices d'anticorps IgG, IgM et/ou IgA dans les ganglions drainant la région muqueuse recto-génito-urinaire.

On rapporte ainsi la production d'anticorps IgA et IgG d'origine plasmatique ou sécrétoire, et le recrutement local des cellules B sécrétrices d'IgA et IgG comme on l'a constaté dans les essais rapportés aux points III et V des exemples.

Parmi les agents pathogènes auxquels l'invention peut s'appliquer, on citera tout particulièrement : le virus HIV, les virus Herpes, e.g. Herpes simplex, notamment de type 2, les Candida, les Chlamydia, le Papillomavirus humain, les Mycoplasmes génitaux, Treponema pallidum, les Papovavirus, e.g. Condyloma accuminatum et les infections à gonocoques.

Il convient de noter que ce mode d'administration ne se limite pas à induire une réponse locale, et peut permettre également d'induire en même temps une réponse systémique, les deux actions se combinant, et se complétant, voire se renforçant, de manière particulièrement avantageuse. En conséquence, l'utilisation conforme à l'invention vise aussi à développer en plus d'une réponse locale selon l'invention une réponse systémique de type IgG et/ou IgM, et éventuellement IgA (anticorps et cellules B sécrétrices).

Sans qu'il soit besoin de le préciser à chaque fois, il va de soi que lorsqu'on parle d'une réponse en IgG, IgM ou IgA, anticorps et cellules B sécrétrices, il s'agit d'une réponse spécifique à l'immunogène utilisé. Pour d'autres immunogènes, la réponse pourra être en plus ou à la place une réponse immunitaire cellulaire locale (lymphocytes T cytotoxiques, réponse TH1 et TH2, éventuellement suppresseur).

Un autre objet de l'invention est la méthode d'immunisation contre des agents pathogènes tels que décrits plus haut, consistant à administrer par tout moyen connu en soi, la composition immunogène appropriée par voie parentérale, notamment intramusculaire, dans la cuisse, de l'un ou des deux membres inférieurs, de préférence quadriceps, en particulier muscle droit antérieur. Sans qu'il soit besoin de le rappeler à chaque fois, la méthode d'immunisation peut reprendre chacune des caractéristiques, seules ou en combinaison, énoncées ici dans le cadre de l'utilisation.

Dans le cadre de l'utilisation et de la méthode d'immunisation, on peut préciser encore que l'invention s'applique à tous les types de composition immunogène et notamment vaccins connus, qu'ils soient de type classique ou de type recombinant. Comme cela est connu en soi, les compositions, e.g. vaccins de type classique regroupent les compositions, e.g. vaccins entiers vivants atténués ou inactivés, les sous-unités (protéines ou peptides). Ils peuvent être adjuvés ou non adjuvés et être présentés sous forme combinés regroupant différentes valences et/ou différentes formes immunogènes d'une même valence. Les compositions, e.g. vaccins recombinants regroupent les vecteurs vivants exprimant un ou plusieurs immunogènes du pathogène considéré ainsi que les vecteurs plasmidiques polynucléotidiques constitués d'un ADN qui peut être par exemple nu ou inclus dans un liposome (voir e.g. WO-A-90 11092, WO-A-93 19813, WO-A-94 21797, WO-A-95 20660) et qui expriment un ou plusieurs immunogènes. Pour ce qui est des vecteurs vivants recombinants, on peut citer en particulier comme vecteurs les poxvirus, tels que le virus de la vaccine et surtout les poxvirus aviaires (canarypox, fowlpox, pigeonpox, etc.), tels que ceux décrits dans Tartaglia et al., Virol. 1992, 188 : 217, ainsi que les adénovirus. S'agissant d'une nouvelle voie d'administration, il est bien évident que l'invention ne peut pas être limitée à un type particulier de composition, e.g. vaccins mais a vocation à s'appliquer à tous les types de compositions immunogènes, e.g. vaccins, et à toutes les compositions, e.g. vaccins, disponibles utilisables par voie parentérale, notamment intramusculaire.

De même, le protocole d'immunisation sera fonction du type de composition ou de la composition utilisée. Il inclura le nombre d'administrations habituellement utilisé pour une composition donnée ce qui, de manière générale, correspondra à plus d'1 administration, notamment de 2 à 4. L'homme du métier est de toute façon parfaitement à même par des essais de routine de déterminer le nombre optimum d'administrations (e.g. primo-vaccination et rappel). Il faut noter toutefois que

l'injection dans un site distinct des muqueuses peut permettre à elle seule le ciblage d'une réponse locale, sans nécessité de faire un rappel au niveau des muqueuses.

5 Cette immunisation ciblée pourra aussi être associée à une immunisation systémique classique par la même composition ou une autre composition contre le même pathogène.

10 On peut aussi lui associer chez le même hôte un protocole d'immunisation ciblant la muqueuse buccale comportant l'administration d'une composition immunogène contre le même pathogène, identique ou différente, notamment de la même composition, visant à induire une réponse locale en IgG, IgM et/ou IgA et en cellules B sécrétrices d'IgG, IgM et/ou IgA au niveau respectivement de la salive et des ganglions drainant la muqueuse buccale, notamment des ganglions sous-maxillaires (elle peut aussi s'accompagner d'une réaction systémique), de préférence  
15 par injection sublinguale dans le plancher de la bouche. L'essai rapporté aux points III et IV montre qu'une injection sublinguale est un moyen approprié, d'autres voies d'administration au niveau de la cavité orale restant possible. On peut bien entendu utiliser d'autres moyens aptes à activer convenablement les ganglions drainant la muqueuse buccale, notamment les ganglions sous-maxillaires.

20 Une telle combinaison est particulièrement utile pour prévenir ou traiter une infection par un pathogène ayant à la fois les portes d'entrée buccale et recto-génito-urinaire. On peut citer notamment le virus HIV, Herpèsvirus, etc.

25 En conséquence, selon un développement avantageux de la présente invention, l'invention concerne aussi l'utilisation d'une composition immunogène destinée à être administrée à un hôte par voie parentérale dans la cuisse, notamment par voie intramusculaire dans la cuisse, de préférence dans le quadriceps, en particulier dans le muscle droit antérieur, et d'autre part l'utilisation  
30 d'une autre composition immunogène, identique ou différente de la précédente, destinée à être administrée au même hôte par injection sublinguale dans le plancher de la bouche.

35 L'utilisation et la méthode d'immunisation conformes à l'invention trouvent une application préférée dans le cadre de la vaccination contre le virus HIV.

Un exemple particulier est l'utilisation d'un vaccin regroupant un vecteur



exprimant gp120/gp160 de HIV et de la sous-unité glycoprotéique gp120/gp160 de ce même virus. Un exemple particulier est décrit plus loin.

5 Dans le cadre de la présente invention, on prévoit ainsi de mettre en œuvre ce vaccin anti-HIV pour son administration par voie intramusculaire dans la cuisse, éventuellement combiné à une administration sublinguale et/ou systémique classique, e.g. par injection intramusculaire dans le deltoïde.

10 Enfin, l'invention a encore pour objet une composition immunogène comprenant au moins un immunogène spécifique d'un pathogène ayant une porte d'entrée au niveau de la région muqueuse recto-génito-urinaire et un véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable, ce véhicule ou excipient, ou cette composition, conduisant, en liaison avec l'immunogène, à une réponse locale en anticorps IgG, IgM et/ou IgA et en cellules B sécrétrices d'IgG, IgM et/ou IgA au  
15 niveau de cette région muqueuse, lorsque la composition est administrée par voie parentérale dans la cuisse, notamment par voie intramusculaire. Dans le cadre de cette composition immunogène, les caractéristiques énoncées ici au regard des autres objets de l'invention, peuvent être reprises seules ou en combinaison.

20 L'invention va être maintenant décrite plus en détail à l'aide de modes de réalisation pris à titre d'exemples non limitatifs. Il doit être bien compris que l'invention définie par les revendications annexées n'est pas limitée aux modes de réalisation particuliers indiqués dans la description ci-dessus, mais en englobe les variantes qui ne sortent ni du cadre ni de l'esprit de la présente invention.

25

#### Exemple I - Ciblage des ganglions

30 Le ciblage des ganglions impliqués dans les réponses recto-génito-urinaires par la voie intramusculaire dans la cuisse est illustrée par des expériences effectuées chez le macaque cynomolgus : dans ces expériences, une solution de colorant Bleu d'Evans à 2 % en solution saline a été injectée (0,5 à 1 ml) dans le muscle droit antérieur au niveau d'un site situé à distance d'un tiers de l'aîne et de deux tiers du genou.

35

La dissection des animaux euthanasiés 4 heures après injection du colorant, a permis le repérage des ganglions drainant la zone d'inoculation grâce à leur coloration bleue : ganglions inguinaux et iliaques ont ainsi été identifiés.

## Exemple II – Vaccin

### 5 II-1 Vaccin vivant recombinant vCP205, ALVAC-HIV :

vCP205 est un virus canarypox ALVAC dont la construction est décrite à l'exemple 14 de WO-A-95 27507 auquel l'homme du métier pourra se reporter. Il est capable d'exprimer les gènes *env*, *gag* et *pro* du virus HIV-1. Ces gènes sont insérés  
10 dans le locus C3 et sont régulés par les promoteurs H6 et I3L du virus de la vaccine.

Un plasmide pHIV32 contenant les cassettes d'expression pour le gène de la glycoprotéine *env* gp120 MN (plus la partie transmembranaire de gp41 LAI) et les gènes de la souche LAI codant pour *gag* et pour la protéase *pro*, a été utilisé comme  
15 plasmide donneur dans une procédure de recombinaison *in vivo* pour produire le vCP205. Ces cassettes ont été insérées dans le locus C3, entre les séquences flanquantes d'ALVAC, dans une configuration 5'-5', et liées aux promoteurs H6 et I3L.

Le vCP205 a été produit sur fibroblastes d'embryons de poulets en milieu  
20 DMEM-Ham F12 sans sérum, additionné de lactoglutamate et clarifié par centrifugation. Le titre moyen était de  $10^{8.0}$  DICC<sub>50</sub>/ml sur cellules QT35. On prépare les solutions vaccinales par dilution en PBS ("phosphate buffer saline") avec Ca<sup>++</sup> et Mg<sup>++</sup>.

### 25 II-2 vaccin de sous-unité gp160MN/LAI-2

La sous-unité produite est une sous-unité gp160 hybride obtenue à partir d'un vecteur pox.

On utilise un vecteur vaccine VVTG9150 pour produire la gp160. Ce vecteur code pour une gp160 soluble hybride dans laquelle la partie gp120 est dérivée de la souche HIV-1 MN et la partie gp41 provient de l'isolat LAI. Les séquences d'ADN correspondantes ont été fusionnées à l'aide d'un site de restriction artificiel SmaI ne modifiant aucune des deux séquences d'acide aminés de gp120 et gp41. On décrit  
35 ci-après brièvement la construction.

La séquence codant pour gp120 MN a été amplifiée à partir de cellules SupT1

infectées par HIV-MN, par technique PCR avec des oligonucléotides introduisant un site de restriction SphI et un site SmaI respectivement immédiatement en aval de la séquence codant pour le peptide leader et en amont des sites de clivage situés entre gp120 et gp41.

5

La séquence codant pour gp41 a été ainsi produite : la séquence codante complète de env HIV-1 LAI a été placée sous le contrôle du promoteur PH5R du virus de la vaccine. Plusieurs modifications ont été apportées. Un site de restriction SphI a été créé immédiatement en aval de la séquence codant pour le peptide leader, sans altérer la séquence en acides aminés. On a aussi créé un site de restriction SmaI immédiatement en amont de la séquence codant pour les sites de clivage entre gp120 et gp41, sans altérer la séquence en acides aminés. Les deux sites de clivage en position 507-516 (numérotation des acides aminés selon Myers et al. dans : Human retroviruses and AIDS (1994) Los Alamos National Lab. (USA)) ont été mutés (séquence originale : KRR ... REKR mutée en QNH ... QEHN). La séquence codant pour le peptide hydrophobe transmembranaire IFIMIVGGLVGLRIVFAVLSIV (acides aminés 689-710 d'après Myers et al. supra) a été délétée. Un codon stop a été introduit à la place du deuxième codon E de la séquence codant pour PEGIEE (acides aminés 735-740 d'après Myers et al.), c'est-à-dire le 29<sup>ème</sup> acide aminé du domaine intracytoplasmique.

10

15

20

Le plasmide dans lequel la séquence LAI était insérée entre les régions homologues du gène TK du virus de la vaccine, a été coupé par SphI et SmaI, puis lié à la séquence gp120 MN. Le VVTG9150 a ensuite été construit par recombinaison homologue conventionnelle et propagé pour assurer l'expression de la gp160 selon la méthode habituellement utilisée pour vCP205 sur cellules BHK21. Le gp160 a ensuite été purifiée par chromatographie d'immunoaffinité.

25

### Exemple III - Essai 1

30

Deux macaques rhésus femelles (P9224 et P9225) déjà immunisées par voie intramusculaire (dans les cuisses gauche ou droite, alternativement) 2 fois avec  $10^{6.5}$  DICC<sub>50</sub> de l'ALVAC-HIV (vCP205) clarifié, puis 3 fois avec 100 µg de gp160 MN/LAI-2 adjuvée avec de l'OspA ("outer surface protein A" de *Borrelia burgdorferi*) et de l'hydroxyde d'alumine, ont été inoculées 2 fois à 1 mois d'intervalle, dans le plancher de la bouche (sublinguale), avec un mélange contenant de  $10^6$  DICC<sub>50</sub> de vCP205 clarifié et 100 µg de gp160 MN/LAI-2. La salive, l'urine, les sécrétions vaginales et

35

rectales ainsi que le sérum ont été analysés par ELISA pour détecter la présence d'IgA et d'IgG anti-gp160 et anti-CPpp (contre le virus canarypox lui-même).

L'un des deux singes (P9225) a reçu une injection supplémentaire du même mélange (vCP205 + gp160 MN/LAI-2) dans le plancher de la bouche ainsi que le haut de la cuisse droite, trois mois après la dernière injection. Les lymphocytes du sang périphérique et de certains ganglions lymphatiques (sous-maxillaires, axillaires, inguinaux et iliaques) ont été analysés en ELISPOT pour la détection de cellules B productrices d'anticorps IgA et IgG spécifiques de gp160 et CPpp.

Il a pu être montré l'apparition d'IgA anti-gp160 et anti-CPpp dans le lavage de bouche du macaque P9224, et d'IgA anti-gp160 dans le lavage vaginal du macaque P9224. Les réponses IgG spécifiques anti-gp160 sont apparues dès la première injection dans la plupart des sécrétions testées et se sont maintenues tout au long de l'étude.

Par ailleurs, les sérums des deux macaques ont montré une augmentation significative des IgA et IgG spécifiques de gp160 et CPpp.

Enfin, il a été mis en évidence par ELISPOT, chez le singe P9225, une induction préférentielle de cellules B sécrétrices d'anticorps IgA<sup>+</sup> et IgG<sup>+</sup> anti-gp160 et anti-CPpp dans les ganglions lymphatiques ciblés par les immunisations, à savoir les ganglions sous-maxillaires et les ganglions inguinaux et iliaques droits. Ces cellules étaient présentes également dans le sang périphérique, mais à plus faible fréquence.

Pour conclure, ce test a montré la possibilité d'induire une réponse anticorps locale et systémique anti-HIV-1 chez le singe rhésus après immunisation à proximité de ganglions drainant les muqueuses buccales et recto-génito-urinaires.

#### Exemple IV - Essai 2

Le vaccin est un mélange contenant  $10^{6.3}$  DICC50 de vCP205 et 100 µg de sous-unité gp160. On a aussi utilisé un vecteur ALVAC ne comprenant aucune séquence HIV, comme témoin.

- Groupe 1 : 4 singes (macaques rhésus) ont reçu à 4 reprises, à 1 mois

d'intervalle, une injection du mélange vaccinal par voie sublinguale dans le plancher de la bouche ; mélange à volume égal de vCP205 à  $10^{6,9}$  DICC<sub>50</sub>/ml et de gp160 à 400 µg/ml ; 0,25 ml à droite et 0,25 ml à gauche.

- Groupe 2 : 4 singes (macaques rhésus) ont reçu à 4 reprises, à 1 mois d'intervalle, une injection du mélange vaccinal par voie intramusculaire dans la cuisse (perpendiculaire au, et dans le muscle droit antérieur) ; mélange à volume égal de vCP205 à  $10^{6,6}$  DICC<sub>50</sub>/ml et de gp160 à 200 µg/ml ; 0,5 ml à droite et 0,5 ml à gauche.
- Groupe 3 (témoins) : 3 singes (macaques rhésus) ont reçu à 4 reprises, à 1 mois d'intervalle, une injection du vecteur ALVAC par voie intramusculaire dans la cuisse ; ALVAC (CPpp) à  $10^{6,3}$  DICC<sub>50</sub>/ml ; 0,5 ml à droite et 0,5 ml à gauche.

On a mesuré le nombre de lymphocytes B sécréteurs d'IgG<sup>+</sup> totales, spécifiques de la gp160 (résultant des deux types de vaccins) et spécifiques du vecteur ALVAC témoin pour  $10^6$  cellules mononuclées, par prélèvement et dans chaque groupe de macaques. La moyenne et l'écart-type calculés ont été arrondis à l'unité la plus proche.

Les ganglions droits et gauches de chaque catégorie (sous-maxillaires, axillaires, inguinaux, iliaques internes, iliaques externes) ont été prélevés après sacrifice de l'animal, broyés (les ganglions sous-maxillaires droits et gauches ont été poolés), puis soumis à l'analyse des cellules productrices d'anticorps par la technique ELISPOT (adaptée de Erikson K. et al. , Journal of Immunological methods, 153 : 107-113, 1992).

Une réponse systémique en anticorps IgG a aussi été constatée.

Les résultats de comptage des lymphocytes B sécréteurs d'IgG sont rassemblés dans le tableau qui suit :

		Lymphocytes B IgG+ pour 10 <sup>6</sup> cellules mononucléées			
Groupe (nb de singes/groupe)	Immunisation : Voie Immunogène	Prélèvement (sacrifice à S14, après 4 injections)	Totales	gp160	CPpp
1 (n = 4)	Injection sublinguale ALVAC-HIV (VCP205) + gp160 MN/LAI-2	Sang	167±48	1±0	1±1
		Ganglions sous-maxillaires	1168±271	190±127	141±63
		Ganglions axillaires	430±311	0±0	2±2
		Ganglions iliaques internes	662±345	2±1	2±1
		Ganglions iliaques externes	996±508	1±1	3±3
		Ganglions inguinaux	320±83	1±1	2±1
2 (n = 4)	Injection IM (cuisse) ALVAC-HIV (VCP205) + gp160 MN/LAI-2	Sang	152±40	1±0	2±0
		Ganglions sous-maxillaires	575±156	2±1	2±1
		Ganglions axillaires	1251±393	2±0	2±1
		Ganglions iliaques internes	657±188	9±4	4±6
		Ganglions iliaques externes	752±179	277±146	226±175
		Ganglions inguinaux	817±199	62±88	11±13
3 (n = 3)	Injection IM (cuisse) Vecteur ALVAC (CPpp)	Sang	173±46	0±0	3±1
		Ganglions sous-maxillaires	540±148	0±0	1±1
		Ganglions axillaires	624±132	0±0	1±0
		Ganglions iliaques internes	612±67	0±0	4±4
		Ganglions iliaques externes	700±162	0±0	248±202
		Ganglions inguinaux	531±83	0±0	210±80

### Exemple V – Essai 3

Le vaccin est constitué de deux produits injectés séparément, tout d'abord du vCP205 à  $10^{6.5}$  DICC50, puis de la sous-unité gp160 MN/LAI à 50 µg adjuvée par un adjuvant classique.

2 macaques rhésus femelles (#P952 et #P9315) ont reçu :

- à 2 reprises, aux semaines 0 et 4, une injection de vCP205 par voie intramusculaire dans la cuisse (perpendiculaire au, et dans le muscle droit antérieur), à droite puis à gauche alternativement, à la dose de  $10^{6.5}$  DICC50 sous un volume de 1 ml.
- à 5 reprises, aux semaines 8, 12, 25, 99 (pour P952) ou 100 (pour P9315) et 103 (pour P952) ou 104 (pour P9315), une injection de gp160 MN/LAI adjuvée par voie intramusculaire dans la cuisse (perpendiculaire au, et dans le muscle droit antérieur), à droite et à gauche, à la dose de 50 µg (+ 500 µg d'adjuvant) sous un volume de 1 ml (0,5 ml dans chaque cuisse).

On a mesuré le nombre de lymphocytes B sécréteurs d'IgG et d'IgA spécifiques de la gp160 pour  $10^6$  cellules mononuclées, dans chaque prélèvement (ganglions et sang) des deux macaques. La moyenne et l'écart-type des numérations effectuées en triplicat pour chaque prélèvement sont représentés. Les ganglions droits et gauches de chaque catégorie (sous-maxillaires, axillaires, inguinaux, iliaques internes, iliaques externes) ont été prélevés après sacrifice de l'animal, broyés, les ganglions droits et gauches de chaque catégorie ont été poolés, puis soumis à l'analyse des cellules productrices d'anticorps par la technique ELISPOT (adaptée de Eriksson K. et al., Journal of Immunological Methods, 153 : 107-113, 1992).

On a également dosé par la technique ELISA les anticorps IgA et IgG anti-gp160 dans le sérum et les sécrétions muqueuses (urine, lavages vaginaux et rectaux) des deux macaques. Les prélèvements ont été effectués avant les deux rappels tardifs (S99), puis après immunisation juste avant le sacrifice de l'animal (S104 ou S105). Les résultats sont exprimés, pour chaque sécrétion, sous forme de ratio de l'activité spécifique IgA ou IgG anti-gp160 mesurée au moment du sacrifice

par rapport à celle évaluée avant les deux rappels tardifs (S99). On a considéré qu'une sécrétion était significativement positive en IgA ou IgG spécifiques si ce ratio était supérieur à 3 ( l'activité spécifique d'une sécrétion correspond au titre en IgA ou IgG spécifiques (ici de gp160) divisé par le titre en IgA ou IgG totales).

Par ailleurs, l'origine locale ou plasmatique des IgA ou IgG spécifiques dans une sécrétion a été évaluée selon deux techniques différentes :

1. mesure du coefficient d'excrétion relative des Ig(A ou G) par rapport à l'albumine (protéine d'origine essentiellement plasmatique), selon la technique décrite par Bélec L. et al., AIDS Research And Human Retroviruses, 12 : 157-167, 1996.
2. mesure du coefficient de production locale des Ig(A ou G), comparant l'activité spécifique mesurée dans la sécrétion à celle dans le sérum prélevé au même temps, selon la technique décrite par Van Cott T. et al., Journal of Immunology, 160 : 2000-2012, 1998.

#### Résultats sur les cellules sécrétrices d'anticorps:

Singe	Voie	Prélèvement (sacrifice à S104 ou S105 après 7 injections)	Lymphocytes B IgG+ anti-gp160 pour 10 <sup>6</sup> cellules mononucléées	Lymphocytes B IgA+ anti-gp160 pour 10 <sup>6</sup> cellules mononucléées
P952	Injection IM (cuisse)	Sang	2 + 1	0 + 0
		Ganglions sous-maxillaires	1 + 0	0 + 0
		Ganglions axillaires	3 + 2	0 + 0
		Ganglions iliaques internes	98 + 39	11 + 2
		Ganglions iliaques externes	552 + 159	149 + 31
		Ganglions inguinaux	54 + 8	11 + 2
P9315	ALVAC-HIV (vCP205) puis gp160 MN/LAI-2 adjuvée	Sang	3 + 1	3 + 0
		Ganglions sous-maxillaires	2 + 0	0 + 0
		Ganglions axillaires	2 + 1	1 + 0
		Ganglions iliaques internes	1057 + 311	287 + 35
		Ganglions iliaques externes	892 + 239	346 + 39
		Ganglions inguinaux	227 + 96	123 + 43



### Résultats sur les immunoglobulines présentes dans les sécrétions

<b>Ratio des activités spécifiques IgG anti-gp160 à S104 ou S105 v rsus S99</b>		
<b>Sécrétions</b>	<b>Singe #</b>	<b>Ratio</b>
<b>Urine</b>	<b>P952</b>	<b>8,9</b>
	<b>P9315</b>	<b>51,3</b>
<b>Lavages rectaux</b>	<b>P952</b>	<b>3,5</b>
	<b>P9315</b>	<b>57,5</b>
<b>Lavages vaginaux</b>	<b>P952</b>	<b>6,3</b>
	<b>P9315</b>	<b>57,9</b>

On a détecté aussi des IgA dans certaines sécrétions urinaires, vaginales et rectales.

### Exemple VI

Des préparations vaccinales contre l'Herpes simplex, un Candida, une Chlamydia, un Papillomavirus humain, un Mycoplasme génitale ou Treponema pallidum ont été injectées dans les muscles de la cuisse afin de stimuler et cibler une réponse locale en anticorps IgA au moins au niveau des muqueuses rectales, génitales et/ou urinaires.

**Revendications**

1. Utilisation d'immunogène spécifique d'un agent pathogène ayant une porte d'entrée au niveau d'une muqueuse pour la production d'une composition immunogène destinée à être administrée chez l'homme par voie parentérale à la surface d'une partie du corps distincte et éloignée de ladite muqueuse, de manière à directement développer une réponse locale en anticorps IgA, IgG et/ou IgM et en cellules B sécrétrices desdits anticorps au niveau de ladite muqueuse et des ganglions qui la draine.
2. Utilisation selon la revendication 1 caractérisée en ce que la muqueuse est constituée des muqueuses rectales, génitales et/ou urinaire, et que l'administration par voie parentérale est effectuée dans la cuisse.
3. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on développe des IgA sécrétoires.
4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on développe une réponse en cellules B sécrétrices d'IgG, IgM et/ou IgA au niveau respectivement des muqueuses rectales, génitales et/ou urinaires et des ganglions qui les drainent.
5. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que la composition immunogène est destinée à être administrée par voie intramusculaire dans la cuisse.
6. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que la composition immunogène est destinée à être administrée dans le/les quadriceps, notamment le/les muscles droits antérieurs.
7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la composition immunogène est destinée à développer aussi une réponse systémique.
8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la composition immunogène est dirigée contre un pathogène choisi dans le groupe consistant en : le virus HIV, les virus Herpès notamment Herpes simplex,

les Candida, les Chlamydia, le Papillomavirus humain, les Mycoplasmes génitaux, Treponema pallidum, et les infections à gonocoques.

9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, en combinaison avec l'utilisation d'une autre composition immunogène, identique ou différente de la précédente, destinée à être administrée au niveau de la cavité orale au même sujet de manière à induire en outre une réponse en anticorps IgG et/ou IgA et aussi en cellules B sécrétrices d'IgG et/ou IgA au niveau de la muqueuse buccale et des ganglions qui la drainent.

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

## PCT

REC'D 02 OCT 2000

WIPO PCT

### RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL



(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire PM9808 PCT	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/01539	Date du dépôt international (jour/mois/année) 25/06/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 26/06/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K39/21		
Déposant AVENTIS PASTEUR et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 10 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
  - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

- Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:
  - I ☒ Base du rapport
  - II ☐ Priorité
  - III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
  - IV ☐ Absence d'unité de l'invention
  - V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
  - VI ☐ Certains documents cités
  - VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
  - VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 15/01/2000	Date d'achèvement du présent rapport 28.09.2000
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Renggli, J N° de téléphone +49 89 2399 7461 

# RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR99/01539

## I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

### Description, pages:

1-15                      version initiale

### Revendications, N°:

1-9                      version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description,      pages :
- ☐ des revendications,    n°s :
- ☐ des dessins,            feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**voir feuille séparée**

## III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale.
- ☒ les revendications n°s 9 concernant l'applicabilité industrielle.

parce que :

- ☒ la demande internationale, ou les revendications n°s 9 concernant l'applicabilité industrielle en question, se

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/01539

rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :

**voir feuille séparée**

- ☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :
- ☐ les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.
- ☐ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s en question.

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications
	Non : Revendications 1-9
Activité inventive	Oui : Revendications
	Non : Revendications 1-9
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-8
	Non : Revendications

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VII. Irrégularités dans la demande internationale**

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

**Section I: Remarques additionnelles**

La page 1 du listage des séquences déposée par lettre du 8.9.1999 ne fait pas partie de la demande (règle 13<sup>ter</sup>.1 f) PCT).

**Section III:**

La présente Administration considère que l'objet de la revendication 9 est visé par les dispositions de la règle 67.1 (iv) PCT. En effet, la revendication 9 a pour objet l'utilisation d'une composition immunogène, en combinaison avec la composition immunogène des revendications 1-8, pour administration orale à un sujet.

C'est pourquoi il ne sera pas émis d'opinion quant à la question de savoir si l'objet de ces revendications est susceptible d'application industrielle (article 34(4) a) i) PCT).

**Section V:**

1. Il est fait référence aux documents suivants:

D1	Xie J-M. et al, Vaccine, 1996, Vol. 14(10), pp. 993-1000
D2	Kim J.J. et al, Vaccine, 1997, Vol. 15(8), pp. 879-883
D3	Anderson K. P. et al, J. Inf. Dis., 1989, Vol. 160(6), pp. 960-969
D4	Davis D. et al., Vaccine, 1997, Vol. 15(15), pp. 1661-1669
D5*	Sasaki S. et al., J. Virol., 1998, Vol. 72(6), pp. 4931-4939
D6	US 4,368,191
D7	US 5,462,734
D8	FR 2 751 879
D9	US 3,931,398
D10	Russell M. W. et al, Rev. Inf. Dis., 1988, Vol. 10(2), pp. S440-S446
D11	Thibodeau L. et al, AIDS Res. and Hum. Retroviruses, 1992, Vol. 8, p. 1379

\* Ce document était disponible en bibliothèque dès le 15 mars 1998 (Bibliothèque OEB, La Haye), soit avant la date de priorité de la présente demande.

**2. Application industrielle (Art. 33(4) PCT):**

Le contenu des revendications 1-8 est susceptible d'application industrielle.

Il n'existe pas de critère unifié dans les Etats parties au PCT pour déterminer si la revendication 9 est susceptible d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

**3. Nouveauté (Art. 33(2) PCT):**

Le document D1 décrit l'utilisation de la protéine gp120 de la souche HIV AUG06c comme immunogène. Un vecteur recombinant placé sous le contrôle d'un promoteur CMV est utilisé pour immuniser des souris intramusculairement dans le quadriceps de la cuisse. Une réponse anticorps et une prolifération ont été détectées chez les souris immunisées (cf. pages 993-994, paragraphe liant / page 995, DNA inoculation, proliferation assay, ELISA et page 997, antibody response to plasmid...; page 999, discussion).

A la lumière de D1, le contenu des revendications 1-8 n'est donc pas nouveau (Art. 33(2) PCT).

Le document D2 décrit l'utilisation d'un vaccin multivalent dirigé contre HIV. Le vaccin contient les protéines gp160, p55 et vif et est injecté seul ou en combinaison avec des adjuvants sous forme génétique dans le quadriceps de souris. Des anticorps neutralisants et une immunité à médiation cellulaire sont présentes après l'injection (cf. le document en entier).

Le document D2 anticipe le contenu des revendications 1-8 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

Le document D3 décrit l'utilisation de la protéine gp120 de HIV sous forme recombinante pour immuniser des babouins intramusculairement dans la cuisse. Ce document s'intéresse particulièrement à l'influence de la dose et du programme d'immunisation. Des



anticorps neutralisants sont présents après l'injection (cf. le document en entier).

Le document D3 anticipe le contenu des revendications 1-8 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

Le document D4 décrit l'utilisation des protéines gp120 et gag p24 de HIV sous forme recombinante pour immuniser des singes rhésus ayant été préalablement en contact avec le virus intramusculairement. Ce document s'intéresse particulièrement à l'utilisation successive de protéines recombinantes et de peptides synthétiques afin de stimuler et diriger la réponse immunitaire sur certains épitopes particuliers. Des anticorps neutralisants sont présents après l'injection (cf. le document en entier).

Le document D4 anticipe le contenu des revendications 1, 3, 4, 7 et 8 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

Le document D5 décrit l'utilisation de l'adjuvant QS21 en combinaison avec les vaccins ADN codant pour les protéines env et rev de HIV-1IIIB pour immuniser des souris intramusculairement dans le biceps du fémur ou intranasalement. Ce document démontre que des anticorps IgA sécrétoires et IgG sont présents après l'injection dans les sécrétions d'origine fécale et dans le sérum; une DTH est également présente (cf. le document en entier).

Le document D5 anticipe le contenu des revendications 1-5, 7 et 8 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

D6 décrit un vaccin permettant de lutter contre une maladie fongique cutanée (*Trycophyton* sp.) atteignant les animaux à fourrures tels que les renards et les lapins. Le vaccin est administré dans la cuisse des animaux sur le côté externe et induit une production d'anticorps permettant de protéger les animaux vaccinés (voir colonnes 6, 7, 9-11 et 14; revendications 3 et 4).

Le document D6 anticipe le contenu des revendications 1-5 et 7 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

D7 concerne la production et l'utilisation d'un vaccin contre le virus de l'herpès. Le vaccin consiste en 2 formulations distinctes destinées à être injectées par voie parentérale, e.g. intramusculaire, et par voie mucosale, e.g. intranasale, respectivement (cf. c3, lignes 30-48; c4, lignes 22-67; c6, lignes 19-42). Ce protocole d'immunisation a permis l'établissement d'une réponse humorale IgG et IgA mucosale et systémique; la réponse

est protectrice pour des veaux exposés au virus herpès bovin (voir exemples; c10, Table 2).

Le document D7 anticipe le contenu des revendications 1, 3, 4, 7 et 8 de la présente demande (Article 33(2) PCT).

D8 décrit un vaccin contre les infections à papillomavirus. Le vaccin est préférentiellement sous forme de vecteur recombinant; les vecteurs peuvent être des poxvirus du canari ou des virus de la vaccine (voir page pages 9-10). Le vaccin de D3 permet la production d'anticorps et est injecté par voie intramusculaire, sous-cutanée, sous-épithéliale ou par scarification (voir page 3; page 14, lignes 14-28; pages 25-26, exemple 6).

D8 anticipe le contenu des revendications 1, 3, 4, 7 et 8 de la présente demande (Art. 33(2) PCT).

D9 décrit un vaccin contre les caries dentaires. Le vaccin est administré oralement permet la production d'anticorps IgA qui protègent contre les caries (voir page 3; page 14, lignes 14-28; pages 25-26, exemple 6).

D9 n'anticipe donc apparemment pas le contenu de la revendication 1 car il est appliqué sur la même muqueuse que le pathogène. La caractéristique technique "distincte" différencie donc l'objet de la revendication 1 du document D9 (Art. 33(2) PCT).

D10 résume l'état de la technique dans le domaine de l'immunisation mucosale. Ce document indique que, en combinaison avec une injection parentérale ultérieure, l'immunisation mucosale permet la production d'anticorps IgA sécrétoire. D10 indique de plus que l'immunisation orale permet la production d'anticorps dans la plupart des sécrétions muqueuses, telle que les bronches et les sécrétions du conduit génital. Finalement, D10 indique que l'injection d'un antigène localement à proximité des glandes muqueuses induit non seulement une réponse IgA sécrétoires mais également une réponse systémique de type IgG et IgM (voir le document en entier).

Ce document porte donc préjudice à la nouveauté des revendications 1, 3, 4, 7 et 9 de la présente demande (Art. 33(2) PCT).

D11 s'intéresse à l'immunisation contre le virus HIV. L'injection de liposomes comprenant la protéine gp160 a été utilisée pour immuniser des patients par voie orale et/ou parentérale. Des anticorps IgA sécrétoires ont été détectés dans la salive des personnes immunisées.

Ce document porte donc préjudice à la nouveauté des revendications 1, 3, 4 et 7- 9 de la présente demande (Art. 33(2) PCT).

Remarques additionnelles: La caractéristique de la revendication 1 "de manière à directement développer une réponse locale en anticorps IgA, IgG et/ou IgM et en cellules B sécrétrices desdits anticorps au niveau de la muqueuse et des ganglions qui la drainent" est considéré comme une caractéristique implicite dans les documents cités ci-dessus. L'utilisation de paramètres particuliers pour définir une composition immunogène ne permet pas d'établir une nouveauté par rapport à l'art antérieur (Directives PCT, Gazette PCT-Section IV, IV-7.5), ceci semble en particulier mais pas exclusivement s'appliquer aux documents où l'injection a été effectuée en intramusculaire dans la cuisse.

## **Section VII**

1. Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans le document D5 et ne cite pas ce document.

2. La formulation vague et imprécise utilisée dans la description à la page 7, ligne 24 semble indiquer que l'objet de la protection est différent de celui qui a été défini dans les revendications. Il en résulte un manque de clarté (article 6 PCT) lorsque les revendications sont interprétées à la lumière de la description (voir les Directives PCT, PCT/GL/3 III, 4.3a).

## **Section VIII**

1. La revendication 1 ne satisfait pas aux conditions requises aux Articles 5 et 6 PCT pour les raisons suivantes:

En combinaison avec la revendication 7, la revendication 1 donne l'impression que son objet consiste en une composition immunogène pouvant, de façon contrôlée, induire une réponse exclusivement localement, dans le cas précis au niveau de la muqueuse et des ganglions qui la drainent.

Cependant, les exemples fournis dans la présente demande ne décrivent apparemment aucune solution technique permettant d'atteindre ce résultat, puisque il semble qu'une réponse systémique augmentée ait été également détectée suite à l'injection de

compositions immunogènes. Par conséquent, l'homme du métier désireux de reproduire l'invention devrait faire preuve d'activité inventive afin d'atteindre le but fixé. Ceci contrevient aux conditions énoncées dans l'article 5 et les Directives, Gazette PCT-Section IV, II-4.11. Il est de plus noté que le document D10 (par exemple mais pas uniquement) indique clairement que même lors d'une injection mucosale, une réponse systémique est détectée. Dans tous les types d'injection, une réponse systémique, même faible, semble donc être présente. Par conséquent, il n'est pas clair comment le résultat apparemment recherché peut être obtenu par le demandeur (Directives PCT, Gazette PCT-Section IV, III-4.7, Art. 6 PCT).

2. La formulation de la revendication "partie du corps éloignée de ladite muqueuse" a un sens relatif et l'objet de ladite revendication manque par conséquent totalement de clarté (article 6 PCT). De plus, il n'est pas clair comment une réponse locale au niveau de la muqueuse peut être obtenue par une simple composition immunogène si celle-ci est injectée loin de la muqueuse. Cette formulation n'est également pas compréhensible à la lumière des exemples présentés dans la demande; la cuisse ne semble en effet pas "éloignée" des muqueuses rectales, vaginales ou urinaires (Directives PCT, Gazette PCT-Section IV, III-4.3).

3. La catégorie de la revendication 9 n'est pas claire. Cette revendication ne peut être, dans sa formulation actuelle, une revendication dépendante des revendications 1-8 (Directives, Gazette PCT-Section IV, III-3.1 et 4.1; voir Section III ci-dessus).

4. Les revendications 1, 3, 4 et 9 ne précisent pas quelle spécificité les anticorps détectés possèdent (voir description de la demande, page 4, lignes 32-34). L'objet des ces revendications n'est donc pas clairement défini (Art. 6 PCT et Directives PCT, Gazette PCT-Section IV, III-4.1, 4.2).

5. Le terme "en outre" utilisé dans la revendication 9 est vague et équivoque, et laisse un doute quant aux types et à la localisation des réponses immunitaires induites par la composition immunogène. L'objet de ladite revendication n'est donc pas clairement défini (article 6 PCT).

6. Le terme "notamment" n'a pas de portée limitative sur les caractéristiques techniques auxquelles il est lié; ceci introduit un manque de clarté concernant la portée des

**RAPPORT D'EXAMEN**

Demande internationale n° PCT/FR99/01539

**PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPARÉE**

---

revendications 6 et 8 (Art. 6 PCT).

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>PM9808</b>	<b>POUR SUITE</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après <b>A DONNER</b>	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 99/01539</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>25/06/1999</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>26/06/1998</b>
Déposant  <b>PASTEUR MERIEUX SERUMS &amp; VACCINS et al.</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 6 feuilles.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

## 1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.



la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

- b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :



contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.



déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.



La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.



La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☒ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

## 4. En ce qui concerne le titre,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.



Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

## 5. En ce qui concerne l'abrégé,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant



le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

## 6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°



suggérée par le déposant.



parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.



parce que cette figure caractérise mieux l'invention.



Aucune des figures n'est à publier.

**Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
  
voire feuille supplémentaire PCT/ISA/210
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.1

Bien que les revendications 1-9 concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.

-----

Suite du cadre I.1

Revendications nos.: 1-9

Règle 39.1(iv) PCT - Méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

CT/FR 99/01539

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6    A61K39/21    A61K39/245    A61K39/12    A61K39/00    A61K39/118  
           A61K39/02    //C07K14/16

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6    A61K    C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	JIAN-MING X ET AL: "Immunogenic potential of rgp120 from African HIV-1 subtype A" VACCINE, vol. 14, no. 10, juillet 1996 (1996-07), page 993-1000 XP004057631 abrégé * page 995 "DNA inoculation" * "Discussion"	1-9
X	KIM J J ET AL: "Development of a multicomponent candidate vaccine for HIV-1" VACCINE, vol. 15, no. 8, juin 1997 (1997-06), page 879-883 XP004075675 abrégé page 879, colonne de droite, ligne 1-28 page 880, colonne de gauche, ligne 32-41 ----- -/-	1-9

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

1 novembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12/11/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Covone, M

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>ANDERSON K.P. ET AL.: "Effect of dose and immunization schedule on immune response of baboons to recombinant glycoprotein 120 of HIV-1"</p> <p>J.INFECT.DIS., vol. 160, no. 6, 1989, pages 960-969, XP002097164 page 962, colonne de gauche, ligne 5-15 page 966, colonne de droite, ligne 12-21 page 967, colonne de gauche -page 968, colonne de droite</p> <p>---</p>	1-9
X	<p>DAVIS D ET AL: "A recombinant prime, peptide boost vaccination strategy can focus the immune response on to more than one epitope even though these may not be immunodominant in the complex immunogen"</p> <p>VACCINE, vol. 15, no. 15, octobre 1997 (1997-10), page 1661-1669 XP004091936 page 1662, colonne de gauche, ligne 33-40 -colonne de droite, ligne 7-14</p> <p>---</p>	1-5,7-9
X	<p>SASAKI S ET AL: "Induction of systemic and mucosal immune responses to human immunodeficiency virus type 1 by a DNA vaccine formulated with QS-21 saponin adjuvant via intramuscular and intranasal routes."</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, (1998 JUN) 72 (6) 4931-9. , XP002121092 abrégé page 4931, colonne de droite, alinéa 3 -page 4932, colonne de gauche, alinéa 4 figures 1,2 page 4935, colonne de droite, alinéa 4 -page 4937, colonne de gauche, alinéa 1</p> <p>---</p>	1-5,7-9
X	<p>US 4 368 191 A (SARKISOV ARUTJUN K ET AL) 11 janvier 1983 (1983-01-11) colonne 6, ligne 10-24 colonne 9, ligne 23-31 colonne 10, ligne 15-38 colonne 11, ligne 4-27 revendications 3,4</p> <p>---</p>	1-7,9
X	<p>US 5 462 734 A (LETCHWORTH III GEOFFREY J ET AL) 31 octobre 1995 (1995-10-31) revendication 1 colonne 3, ligne 30-48 colonne 4, ligne 54-60 colonne 6, ligne 19-42</p> <p>---</p> <p>-/--</p>	1-5,7-9

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 751 879 A (TRANSGENE SA) 6 février 1998 (1998-02-06) page 3, ligne 28 -page 4, ligne 14 page 14, ligne 14-28 ----	1-5,7-9
X	US 3 931 398 A (GAFFAR ABDUL ET AL) 6 janvier 1976 (1976-01-06) colonne 1, ligne 63 -colonne 2, ligne 8 colonne 3, ligne 63 -colonne 4, ligne 6 colonne 7, ligne 3-12 ----	9
A	RUSSELL M.W. ET AL.: "Induction of the mucosal immune response" REV. INFECT. DIS., vol. 10, no. suppl.2, 1988, pages s440-s446, XP002097165 abrégé tableaux 1,2 ----	1-9
A	THIBODEAU L. ET AL.: "Oral priming followed by parenteral immunization with HIV-immunosomes induce HIV-1-specific salivary and circulatory IgA in mice and rabbits" AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, vol. 8, no. 8, 1992, page 1379 XP002096781 le document en entier -----	9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

CT/FR 99/01539

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 4368191	A	11-01-1983	CA	1136042 A	23-11-1982
			DE	2923144 A	13-12-1979
			FI	791825 A,B,	08-12-1979
			FR	2427823 A	04-01-1980
			GB	2025222 A,B	23-01-1980
-----					
US 5462734	A	31-10-1995	NONE		
-----					
FR 2751879	A	06-02-1998	AU	3855297 A	20-02-1998
			CA	2234263 A	05-02-1998
			EP	0862634 A	09-09-1998
			WO	9804705 A	05-02-1998
-----					
US 3931398	A	06-01-1976	US	3993747 A	23-11-1976
-----					

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PM9808	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR99/01539	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) 25 June 1999 (25.06.99)	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) 26 June 1998 (26.06.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 39/21		
Applicant AVENTIS PASTEUR		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>10</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 15 January 2000 (15.01.00)	Date of completion of this report 28 September 2000 (28.09.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/01539

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-15, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-9, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**See the Supplemental Sheet.**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/01539

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 9

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 9 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

**See the Separate Sheet.**

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

**Box I: Additional comments**

Page 1 of the sequence listing filed with the letter dated 8.9.1999 does not form part of the application (PCT Rule 13<sup>ter</sup>.1(f)).



**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III.

The present Authority considers that the subject matter of Claim 9 is covered by PCT Rule 67.1 (iv): Claim 9 is directed to the use of an immunogenic composition, in combination with the immunogenic composition of Claims 1-8, for oral delivery to a subject.

For this reason, no opinion will be established with respect to the question of whether the subject matter of these claims is industrially applicable (PCT Article 34(4)(a)(i)).

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1-9	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-9	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-8	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****1. Reference is made to the following documents:**

D1: Xie J-M. et al, Vaccine, 1996, Vol. 14(10),  
pages 993-1000

D2: Kim J.J. et al, Vaccine, 1997, Vol. 15(8), pages  
879-883

D3: Anderson K. P. et al, J. Inf. Dis., 1989, Vol.  
160(6), pages 960-969

D4: Davis D. et al., Vaccine, 1997, Vol, 15(15),  
pages 1661-1669

D5\*: Sasaki S. et al, J. Virol., 1998, Vol. 72(6),  
pages 4931-4939

D6: US-4 368 191

D7: US-5 462 734

D8: FR-2 751 879

D9: US-3 931 398

D10: Russell M. W. et al, Rev. Inf. Dis., 1988, Vol.  
10(2), pages S440-S446

D11: Thibodeau L. et al, AIDS Res. And Hum.  
Retroviruses, 1992, Vol. 8, page 1379.

\* This document was available in libraries as from  
March 15, 1998 (EPO library, the Hague), i.e.,  
before the priority date of the present application.

## 2. Industrial applicability (PCT Article 33(4)):

The content of Claims 1-8 is industrially applicable.

There is no single PCT criterion for assessing the industrial applicability of a claim. Patentability may also depend on the wording of the claims. The European Patent Office, for example, does not recognise the industrial applicability of the subject matter of claims to the medical use of a known compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

## 3. Novelty (PCT Article 33(2)):

Document D1 describes the immunogenic use of the protein gp120 of the HIV AUG06c strain. A recombinant vector controlled by a CMV promoter is used to inoculate mice via the intramuscular route in the thigh quadriceps. Antibody response and proliferative response have been detected in the inoculated mice (cf. pages 993-994, paragraph between page 995, DNA inoculation, proliferation assay, ELISA, and page 997, antibody response to plasmid...; page 999, discussion).

In the light of D1, the content of Claims 1-8 is therefore not novel (PCT Article 33(2)).

Document D2 describes the use of a multicomponent vaccine against HIV. Said vaccine contains proteins gp160 and p55, is live and is injected alone or in

combination with genetic form adjuvants in the quadriceps of mice. Following inoculation, neutralising antibodies and cell-mediated immunity are exhibited (cf. the entire document).

Document D2 therefore anticipates the content of Claims 1-8 of the present application (PCT Article 33(2)).

Document D3 describes the use of the recombinant gp120 protein of HIV to immunise baboons via the intramuscular route in the thigh. Said document deals particularly with the effect of the dose and the immunisation schedule. Neutralising antibodies are present following injection (cf. the entire document).

Document D3 therefore anticipates the content of Claims 1-8 of the present application (PCT Article 33(2)).

Document D4 describes the use of the recombinant gp120 and gag p24 proteins of HIV to carry out the immunisation of rhesus monkeys that have previously been in contact with the virus via the intramuscular route. Said document particularly addresses the successive use of recombinant proteins and synthetic peptides to stimulate and direct the immune response to specific epitopes. Neutralising antibodies are present following injection (cf. the entire document).

Document D4 therefore anticipates the content of Claims 1, 3, 4, 7 and 8 of the present application (PCT Article 33(2)).

Document D5 describes the use of the adjuvant QS21 in combination with DNA vaccines coding for the env and rev proteins of HIV-1IIIB to carry out the immunisation of mice via the intramuscular route in the femur biceps, or via the intranasal route. Said document shows that secretory IgA and IgG antibodies are present following immunisation in the faecal secretions and in the serum; a DTH is also present (cf. the entire document).

Document D5 therefore anticipates the content of Claims 1-5, 7 and 8 of the present application (PCT Article 33(2)).

D6 describes a vaccine against a dermatomycosis (Trycophyton sp.) affecting fur-bearing animals such as the fox and the rabbit. Said vaccine is administered in the thigh of the animals, on the outer side thereof, and induces the production of antibodies which protect the immunised animals (see columns 6, 7, 9-11 and 14; Claims 3 and 4).

Document D6 anticipates the content of Claims 1-5 and 7 of the present application (PCT Article 33(2)).

D7 relates to the production and use of a vaccine against herpesvirus. Said vaccine consists of two separate formulations to be injected by parenteral route, e.g. intramuscular, and by mucosal route, e.g. intranasal, respectively (cf. column 3, lines 30-48; column 4, lines 22-67; column 6, lines 19-42). This immunisation protocol leads to a systemic and mucosal humoral IgG and IgA response; said response confers protection to calves exposed to

bovine herpesvirus (see the examples; column 10, Table 2).

Document D7 therefore anticipates the content of Claims 1, 3, 4, 7 and 8 of the present application (PCT Article 33(2)).

D8 describes a vaccine against papillomavirus infections. Said vaccine is preferably in the form of a recombinant vector; the vectors can be canary poxviruses or vaccinia viruses (see pages 9-10). The vaccine of D3 leads to the production of antibodies and is injected by intramuscular, sub-cutaneous or sub-epithelial route, or by scarification (see page 3; page 14, lines 14-28; pages 25-26, Example 6).

D8 therefore anticipates the content of Claims 1, 3, 4, 7 and 8 of the present application (PCT Article 33(2)).

D9 describes a vaccine against dental caries. Said vaccine is administered orally and leads to the production of IgA antibodies that confer protection against caries (see page 3; page 14, lines 14-28; pages 25-26, Example 6).

D9 does not appear to anticipate the content of Claim 1, since the vaccine is delivered on the same mucosa as the pathogenic agent. The technical feature "separate" therefore distinguishes the subject matter of Claim 1 from document D9 (PCT Article 33(2)).

D10 summarises the prior art in the field of mucosal immunisation. Said document indicates that, used in

combination with a subsequent parenteral injection, mucosal immunisation leads to the production of secretory IgA antibodies. D10 indicates, moreover, that oral immunisation leads to antibody production in most of the mucosal secretions such as of the bronchi, and the genital tract secretions. Finally, D10 indicates that injecting an antigen locally in the vicinity of the mucosal glands induces not only a secretory IgA response, but also a systemic IgG and IgM response (see the entire document). Said document is therefore prejudicial to the novelty of Claims 1, 3, 4, 7 and 9 of the present application (PCT Article 33(2)).

D11 is directed to immunisation against HIV. Injection of liposomes containing the protein gp160 has been used to immunise patients orally and/or parenterally. Secretory IgA antibodies have been detected in the saliva of the persons immunised. Said document is therefore prejudicial to the novelty of Claims 1, 3, 4 and 7-9 of the present application (PCT Article 33(2)).

Additional comments: The following feature of Claim 1 is considered to be implicit in the above-mentioned documents: "thereby directly eliciting a local response in the form of IgA, IgG and/or IgM antibodies and the secretory B cells of said antibodies in the mucosa or the ganglions draining same". The use of specific parameters to define an immunogenic composition does not allow novelty to be established over the prior art (PCT Guidelines, Section IV, Chapter IV-7.5). This appears to apply in particular, but not exclusively to those documents where injection is carried out via the

intramuscular route in the thigh.



**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not outline the relevant prior art set forth in document D5 and does not cite this document.
2. The vague and imprecise wording used on page 7, line 24 of the description appears to indicate that the subject matter for which protection is sought differs from that defined in the claims. There results a lack of clarity (PCT Article 6) when the claims are interpreted in the light of the description (see PCT Guidelines, Chapter III-4.3a).

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claim 1 does not meet the requirements of PCT Articles 5 and 6 for the following reasons:

In combination with Claim 7, Claim 1 appears to indicate that the subject matter thereof is an immunogenic composition which can controllably induce an exclusively local response, specifically in the mucosa and the ganglions draining same.

However, the examples provided in the present application do not appear to describe any technical solution to achieve said result, since it appears that an enhanced systemic response has also been detected following the injection of immunogenic compositions. Consequently, a person skilled in the art seeking to reproduce the invention must exercise an inventive activity in order to achieve the proposed aim. This contravenes the requirements of PCT Article 5 and of the PCT Guidelines, Section IV, Chapter II-4.11. It is moreover noted that document D10 (inter alia) clearly indicates that even in the case of a mucosal injection, a systemic response is detected. In all the types of injection, a systemic response appears to be present, even at low levels. Consequently, it is unclear how the result apparently sought can be obtained by the applicant (PCT Guidelines, PCT/ Section IV, Chapter III-4.7, PCT Article 6).

2. The following wording of the claim, "a part of the body distant from said mucosa", has a relative meaning. Therefore, the subject matter of said claim is completely devoid of clarity (PCT Article 6). Furthermore, it is

**VIII. Certain observations on the international application**

unclear how a local response in the mucosa can be obtained by a simple immunogenic composition if the latter is injected at a point distant therefrom. This wording is not clear in the light of the examples given in the application either; the thigh does not appear to be "distant" from the rectal, vaginal or urinary mucosa (PCT Guidelines, Section IV, Chapter III-4.3).

3. The category of Claim 9 is unclear. In its present formulation, said claim cannot be dependent on Claims 1-8 (PCT Guidelines, Section IV, Chapter III-3.1 and 4.1; see Box III above).

4. Claims 1, 3, 4 and 9 do not identify the specificity of the antibodies detected (see description of the application, page 4, lines 32-34). The subject matter of these claims has therefore not been clearly defined (PCT Article 6 and PCT Guidelines, Section IV, Chapter III-4.1, 4.2).

5. The term "furthermore", used in Claim 9, is vague and ambiguous, and casts a doubt as to the types and location of the immune responses induced by the immunogenic composition. The subject matter of said claim has therefore not been clearly defined (PCT Article 6).

6. The term "in particular" has no limiting effect on the technical feature which it precedes; this leads to a lack of clarity as regards the scope of Claims 6 and 8 (PCT Article 6).

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

<b>Date d'expédition (jour/mois/année)</b> 15 février 2000 (15.02.00)	
<b>Demande internationale no</b> PCT/FR99/01539	<b>Référence du dossier du déposant ou du mandataire</b> PM9808
<b>Date du dépôt international (jour/mois/année)</b> 25 juin 1999 (25.06.99)	<b>Date de priorité (jour/mois/année)</b> 26 juin 1998 (26.06.98)
<b>Déposant</b> JOURDIER, Thérèse etc	
<p>1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le: <u>15 janvier 2000 (15.01.00)</u></p> <p><input type="checkbox"/> dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le: _____</p> <p>2. L'élection <input checked="" type="checkbox"/> a été faite <input type="checkbox"/> n'a pas été faite</p> <p>avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).</p>	
<b>Bureau international de l'OMPI</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	<b>Fonctionnaire autorisé</b> Philippe Bécamel no de téléphone: (41-22) 338.83.38

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT  
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et  
instruction administrative 422 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

KERNEIS, Danièle  
Pasteur Merieux Connaught  
Direction de la Propriété  
Industrielle  
58, avenue Leclerc  
F-69007 Lyon  
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 05 avril 2000 (05.04.00)	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire PM9808	NOTIFICATION IMPORTANTE
Demande internationale no PCT/FR99/01539	Date du dépôt international (jour/mois/année) 25 juin 1999 (25.06.99)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:		
<input checked="" type="checkbox"/> le déposant	<input type="checkbox"/> l'inventeur	<input type="checkbox"/> le mandataire <input type="checkbox"/> le représentant commun
Nom et adresse PASTEUR MERIEUX SERUMS & VACCINS 58, avenue Leclerc F-69007 Lyon FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	
2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:		
<input checked="" type="checkbox"/> la personne	<input checked="" type="checkbox"/> le nom	<input checked="" type="checkbox"/> l'adresse <input type="checkbox"/> la nationalité <input type="checkbox"/> le domicile
Nom et adresse AVENTIS PASTEUR 2, avenue pont Pasteur F-69367 Lyon Cedex 07 FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	
3. Observations complémentaires, le cas échéant:		
4. Une copie de cette notification a été envoyée:		
<input checked="" type="checkbox"/> à l'office récepteur	<input type="checkbox"/> aux offices désignés concernés	
<input type="checkbox"/> à l'administration chargée de la recherche internationale	<input checked="" type="checkbox"/> aux offices élus concernés	
<input checked="" type="checkbox"/> à l'administration chargée de l'examen préliminaire international	<input type="checkbox"/> autre destinataire:	

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé: Philippe Bécamel no de téléphone (41-22) 338.83.38
---	--

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Indor - United Application No  
PC. / FR 99/01539

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 6 A61K39/21 A61K39/245 A61K39/12 A61K39/00 A61K39/118 A61K39/02 //C07K14/18		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JIAN-MING X ET AL: "Immunogenic potential of rgp120 from African HIV-1 subtype A" VACCINE, vol. 14, no. 10, July 1996 (1996-07), page 993-1000 XP004057631 abstract * page 995 "DNA inoculation" * "Discussion"	1-9
X	KIM J. J ET AL: "Development of a multicomponent candidate vaccine for HIV-1" VACCINE, vol. 15, no. 8, June 1997 (1997-06), page 879-883 XP004075675 abstract page 879, right-hand column, line 1-28 page 880, left-hand column, line 32-41	1-9
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are cited in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> Prior art family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance 'E' earlier document but published on or after the international filing date 'I' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) 'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means 'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention 'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone 'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. 'Z' document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  1 N vember 1999		Date of mailing of the international search report  12/11/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentstein 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 00 01, Fax: (+31-70) 340-3010		Authorized officer  Covone, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Ind. - U.S. Application No.  
PC, /FR 99/01539

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>ANDERSON K.P. ET AL.: "Effect of dose and immunization schedule on immune response of baboons to recombinant glycoprotein 120 of HIV-1"</p> <p>J. INFECT. DIS., vol. 160, no. 6, 1989, pages 960-969, XP002097164</p> <p>page 962, left-hand column, line 5-15 page 966, right-hand column, line 12-21 page 967, left-hand column -page 968, right-hand column</p>	1-9
X	<p>DAVIS D ET AL: "A recombinant prime, peptide boost vaccination strategy can focus the immune response on to more than one epitope even though these may not be immunodominant in the complex immunogen"</p> <p>VACCINE, vol. 15, no. 15, October 1997 (1997-10), page 1661-1669 XP004091936</p> <p>page 1662, left-hand column, line 33-40 -right-hand column, line 7-14</p>	1-5,7-9
X	<p>SASAKI S ET AL: "Induction of systemic and mucosal immune responses to human immunodeficiency virus type 1 by a DNA vaccine formulated with QS-21 saponin adjuvant via intramuscular and intranasal routes."</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, (1998 JUN) 72 (6) 4931-9. , XP002121092</p> <p>abstract page 4931, right-hand column, paragraph 3 -page 4932, left-hand column, paragraph 4 figures 1,2 page 4935, right-hand column, paragraph 4 -page 4937, left-hand column, paragraph 1</p>	1-5,7-9
X	<p>US 4 368 191 A (SARKISOV ARUTJUN K ET AL) 11 January 1983 (1983-01-11) column 6, line 10-24 column 9, line 23-31 column 10, line 15-38 column 11, line 4-27 claims 3,4</p>	1-7,9
X	<p>US 5 462 734 A (LETCHWORTH III GEOFFREY J ET AL) 31 October 1995 (1995-10-31) claim 1 column 3, line 30-48 column 4, line 54-60 column 6, line 19-42</p>	1-5,7-9

-/--

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC./FR 99/01539

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 751 879 A (TRANSGENE SA) 6 February 1998 (1998-02-06) page 3, line 28 -page 4, line 14 page 14, line 14-28	1-5,7-9
X	US 3 931 398 A (GAFFAR ABDUL ET AL.) 6 January 1976 (1976-01-06) column 1, line 63 -column 2, line 8 column 3, line 63 -column 4, line 6 column 7, line 3-12	9
A	RUSSELL M.W. ET AL.: "Induction of the mucosal immune response" REV. INFECT. DIS., vol. 10, no. suppl. 2, 1988, pages s440-s446, XP002097165 abstract tables 1,2	1-9
A	THIBODEAU L. ET AL.: "Oral priming followed by parenteral immunization with HIV-immunosomes induce HIV-1-specific salivary and circulatory IgA in mice and rabbits" AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, vol. 8, no. 8, 1992, page 1379 XP002096781 the whole document	9



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/FR 99/01539

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

See supplementary sheet PCT/ISA/210

2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/FR 99/01539**

**Continuation of Box I.1**

Although Claims 1-9 concern a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out on the basis of the effects attributed to the product/composition.

**Continuation of Box I.1**

**Claims No. 1-9**

**PCT Rule 39.1(iv) – Method for therapeutic treatment of the human or animal body.**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PC./FR 99/01539

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4368191 A	11-01-1983	CA 1136042 A DE 2923144 A FI 791825 A,B, FR 2427823 A GB 2025222 A,B	23-11-1982 13-12-1979 08-12-1979 04-01-1980 23-01-1980
US 5462734 A	31-10-1995	NONE	
FR 2751879 A	06-02-1998	AU 3855297 A CA 2234263 A EP 0862634 A WO 9804705 A	20-02-1998 05-02-1998 09-09-1998 05-02-1998
US 3931398 A	06-01-1976	US 3993747 A	23-11-1976

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K39/21 A61K39/245 A61K39/12 A61K39/00 A61K39/118  
A61K39/02 //C07K14/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JIAN-MING X ET AL: "Immunogenic potential of rgp120 from African HIV-1 subtype A" VACCINE, vol. 14, no. 10, July 1996 (1996-07), page 993-1000 XP004057631 abstract * page 995 "DNA inoculation" * "Discussion"	1-9
X	KIM J J ET AL: "Development of a multicomponent candidate vaccine for HIV-1" VACCINE, vol. 15, no. 8, June 1997 (1997-06), page 879-883 XP004075675 abstract page 879, right-hand column, line 1-28 page 880, left-hand column, line 32-41 -/--	1-9



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 November 1999

Date of mailing of the international search report

12/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Covone, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PL./FR 99/01539

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>ANDERSON K.P. ET AL.: "Effect of dose and immunization schedule on immune response of baboons to recombinant glycoprotein 120 of HIV-1"</p> <p>J.INFECT.DIS.,</p> <p>vol. 160, no. 6, 1989, pages 960-969,</p> <p>XP002097164</p> <p>page 962, left-hand column, line 5-15</p> <p>page 966, right-hand column, line 12-21</p> <p>page 967, left-hand column -page 968, right-hand column</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-9
X	<p>DAVIS D ET AL: "A recombinant prime, peptide boost vaccination strategy can focus the immune response on to more than one epitope even though these may not be immunodominant in the complex immunogen"</p> <p>VACCINE,</p> <p>vol. 15, no. 15, October 1997 (1997-10),</p> <p>page 1661-1669 XP004091936</p> <p>page 1662, left-hand column, line 33-40</p> <p>-right-hand column, line 7-14</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9
X	<p>SASAKI S ET AL: "Induction of systemic and mucosal immune responses to human immunodeficiency virus type 1 by a DNA vaccine formulated with QS-21 saponin adjuvant via intramuscular and intranasal routes."</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, (1998 JUN) 72 (6)</p> <p>4931-9. , XP002121092</p> <p>abstract</p> <p>page 4931, right-hand column, paragraph 3</p> <p>-page 4932, left-hand column, paragraph 4</p> <p>figures 1,2</p> <p>page 4935, right-hand column, paragraph 4</p> <p>-page 4937, left-hand column, paragraph 1</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9
X	<p>US 4 368 191 A (SARKISOV ARUTJUN K ET AL)</p> <p>11 January 1983 (1983-01-11)</p> <p>column 6, line 10-24</p> <p>column 9, line 23-31</p> <p>column 10, line 15-38</p> <p>column 11, line 4-27</p> <p>claims 3,4</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-7,9
X	<p>US 5 462 734 A (LETCHWORTH III GEOFFREY J ET AL) 31 October 1995 (1995-10-31)</p> <p>claim 1</p> <p>column 3, line 30-48</p> <p>column 4, line 54-60</p> <p>column 6, line 19-42</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 751 879 A (TRANSGENE SA) 6 February 1998 (1998-02-06) page 3, line 28 -page 4, line 14 page 14, line 14-28 ---	1-5,7-9
X	US 3 931 398 A (GAFFAR ABDUL ET AL) 6 January 1976 (1976-01-06) column 1, line 63 -column 2, line 8 column 3, line 63 -column 4, line 6 column 7, line 3-12 ---	9
A	RUSSELL M.W. ET AL.: "Induction of the mucosal immune response" REV. INFECT. DIS., vol. 10, no. suppl.2, 1988, pages s440-s446, XP002097165 abstract tables 1,2 ---	1-9
A	THIBODEAU L. ET AL.: "Oral priming followed by parenteral immunization with HIV-immunosomes induce HIV-1-specific salivary and circulatory IgA in mice and rabbits" AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, vol. 8, no. 8, 1992, page 1379 XP002096781 the whole document -----	9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01539

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
See supplementary sheet PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PC./FR 99/01539

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4368191	A	11-01-1983	CA 1136042 A DE 2923144 A FI 791825 A,B, FR 2427823 A GB 2025222 A,B	23-11-1982 13-12-1979 08-12-1979 04-01-1980 23-01-1980
US 5462734	A	31-10-1995	NONE	
FR 2751879	A	06-02-1998	AU 3855297 A CA 2234263 A EP 0862634 A WO 9804705 A	20-02-1998 05-02-1998 09-09-1998 05-02-1998
US 3931398	A	06-01-1976	US 3993747 A	23-11-1976



**Continuation of Box I.1**

Although Claims 1-9 concern a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out on the basis of the effects attributed to the product/composition.

**Continuation of Box I.1**

Claims No. 1-9

PCT Rule 39.1(iv) – Method for therapeutic treatment of the human or animal body.

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K39/21 A61K39/245 A61K39/12 A61K39/00 A61K39/118  
A61K39/02 //C07K14/16

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	JIAN-MING X ET AL: "Immunogenic potential of rgp120 from African HIV-1 subtype A" VACCINE, vol. 14, no. 10, juillet 1996 (1996-07), page 993-1000 XP004057631 abrégé * page 995 "DNA inoculation" * "Discussion"	1-9
X	KIM J J ET AL: "Development of a multicomponent candidate vaccine for HIV-1" VACCINE, vol. 15, no. 8, juin 1997 (1997-06), page 879-883 XP004075675 abrégé page 879, colonne de droite, ligne 1-28 page 880, colonne de gauche, ligne 32-41	1-9

---  
-/--



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent  
 "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date  
 "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)  
 "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens  
 "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention  
 "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément  
 "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier  
 "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

1 novembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12/11/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Covone, M

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PC./FR 99/01539

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>ANDERSON K.P. ET AL.: "Effect of dose and immunization schedule on immune response of baboons to recombinant glycoprotein 120 of HIV-1"</p> <p>J. INFECT. DIS., vol. 160, no. 6, 1989, pages 960-969, XP002097164</p> <p>page 962, colonne de gauche, ligne 5-15 page 966, colonne de droite, ligne 12-21 page 967, colonne de gauche -page 968, colonne de droite</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-9
X	<p>DAVIS D ET AL: "A recombinant prime, peptide boost vaccination strategy can focus the immune response on to more than one epitope even though these may not be immunodominant in the complex immunogen" VACCINE,</p> <p>vol. 15, no. 15, octobre 1997 (1997-10), page 1661-1669 XP004091936 page 1662, colonne de gauche, ligne 33-40 -colonne de droite, ligne 7-14</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9
X	<p>SASAKI S ET AL: "Induction of systemic and mucosal immune responses to human immunodeficiency virus type 1 by a DNA vaccine formulated with QS-21 saponin adjuvant via intramuscular and intranasal routes."</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, (1998 JUN) 72 (6) 4931-9. , XP002121092</p> <p>abrégé</p> <p>page 4931, colonne de droite, alinéa 3 -page 4932, colonne de gauche, alinéa 4 figures 1,2</p> <p>page 4935, colonne de droite, alinéa 4 -page 4937, colonne de gauche, alinéa 1</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9
X	<p>US 4 368 191 A (SARKISOV ARUTJUN K ET AL) 11 janvier 1983 (1983-01-11)</p> <p>colonne 6, ligne 10-24 colonne 9, ligne 23-31 colonne 10, ligne 15-38 colonne 11, ligne 4-27 revendications 3,4</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-7,9
X	<p>US 5 462 734 A (LETCWORTH III GEOFFREY J ET AL) 31 octobre 1995 (1995-10-31)</p> <p>revendication 1</p> <p>colonne 3, ligne 30-48 colonne 4, ligne 54-60 colonne 6, ligne 19-42</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-5,7-9

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 751 879 A (TRANSGENE SA) 6 février 1998 (1998-02-06) page 3, ligne 28 -page 4, ligne 14 page 14, ligne 14-28 ---	1-5,7-9
X	US 3 931 398 A (GAFFAR ABDUL ET AL) 6 janvier 1976 (1976-01-06) colonne 1, ligne 63 -colonne 2, ligne 8 colonne 3, ligne 63 -colonne 4, ligne 6 colonne 7, ligne 3-12 ---	9
A	RUSSELL M.W. ET AL.: "Induction of the mucosal immune response" REV. INFECT. DIS., vol. 10, no. suppl.2, 1988, pages s440-s446, XP002097165 abrégé tableaux 1,2 ---	1-9
A	THIBODEAU L. ET AL.: "Oral priming followed by parenteral immunization with HIV-immunosomes induce HIV-1-specific salivary and circulatory IgA in mice and rabbits" AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, vol. 8, no. 8, 1992, page 1379 XP002096781 le document en entier -----	9

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

mande internationale n°

PCT/FR 99/ 01539

## Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2(a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n°s se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
  
voire feuille supplémentaire PCT/ISA/210
2. ☐ Les revendications n°s se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n°s sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

## Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°s
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°s

Remarque quant à la réserve

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.

☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs : membres de familles de brevets

Demande internationale No

PC, / FR 99/01539

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille d brevet(s)	Date d publication
US 4368191 A	11-01-1983	CA 1136042 A DE 2923144 A FI 791825 A,B, FR 2427823 A GB 2025222 A,B	23-11-1982 13-12-1979 08-12-1979 04-01-1980 23-01-1980
US 5462734 A	31-10-1995	AUCUN	
FR 2751879 A	06-02-1998	AU 3855297 A CA 2234263 A EP 0862634 A WO 9804705 A	20-02-1998 05-02-1998 09-09-1998 05-02-1998
US 3931398 A	06-01-1976	US 3993747 A	23-11-1976

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.1

Bien que les revendications 1-9 concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.

-----

Suite du cadre I.1

Revendications nos.: 1-9.

Règle 39.1(iv) PCT - Méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal